

## JUMLAH SEL SPERMA TERSIMPAN DI SALURAN REPRODUKSI AYAM PADA STRAIN, UMUR DAN DOSIS INSEMINASI YANG BERBEDA

Tri-Yuwanta<sup>1</sup> dan J.P. Brillard<sup>2</sup>

### INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh strain, umur dan dosis inseminasi yang dilihat pada berbagai waktu setelah inseminasi terhadap jumlah sel sperma tersimpan (SST) di saluran reproduksi ayam betina. Sebanyak 159 ekor ayam pembibit petelur dan 167 pembibit pedaging masing-masing diinseminasi pada umur 30-32 dan 58-60 minggu dengan menggunakan 60 dan 240 juta sel sperma/ml. Pemeriksaan jumlah SST pada 0, 1-5 dan >5 dilakukan pada 1 dan 6 jam, kemudian 1, 2, 4, 7, 14 dan 21 hari setelah inseminasi. Pengamatan dilakukan dengan pembuatan preparat histologi dari *glandula utero-vaginal*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah SST antara 1-5 dan >5 pada tubulus ayam pembibit petelur lebih tinggi ( $P < 0,01$ ) dibandingkan dengan ayam pembibit pedaging. Jumlah SST pada ayam umur muda lebih banyak ( $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan umur tua khususnya pada ayam yang diinseminasi dengan dosis 240 juta sel sperma/ml. Jumlah SST mulai diketemukan dalam oviduk ayam pada hari kedua setelah inseminasi dan menurun hingga hari ke 21 setelah inseminasi.

(Kata Kunci: Ayam Pembibit, *Glandula Utero-Vaginal*, Sel Sperma,  
Sel Sperma Tersimpan, Oviduk.)

Buletin Peternakan 21 (1): 10-18, 1997

<sup>1</sup> Fakultas Peternakan UGM, Yogyakarta 55281

<sup>2</sup> Station de Recherches Avicoles, I.N.R.A. Tours, 37380, France

## NUMBER OF OVIDUCAL SPERM STORAGE TUBULUS IN CHICKENS ON STRAIN, AGE AND DOSE OF ARTIFICIAL INSEMINATION

### ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of the strain, age and number of spermatozoa inseminated on percentage of sperm-storage tubules (SST) containing spermatozoa. One hundred and fifty-nine layer-type hens and 167 broiler-type were inseminated at 30 to 32 or 58 to 60 weeks of age with either 60 millions or 240 millions spermatozoa. Hens were euthanized 1h, 6h, 1d, 2d, 4d, 7d, 14d and 21d following insemination and their oviduct prepared for histology. The SST sections were classified in three categories with reference to the presence or absence of spermatozoa as follows: 0 spermatozoa, 1-5 spermatozoa or > 5 spermatozoa. The results indicated that percentages of SST sections with numbers of 1-5 spermatozoa or > 5 spermatozoa presence on layer utero-vaginal glands highest than broiler type. Number of SST was generally higher in young hens from the layer-type than the SST in old hens with hens inseminated 240 millions spermatozoa/ml. The SST numbers in uterovaginal gland were found on second days after insemination and decreased until twenty one days after insemination.

(Key Words: Broiler and Layer Breeders, Utero-Vaginal Glands, Spermatozoa, Sperm-Cell Storage, Oviduct.)

### Pendahuluan

Glandula utero-vaginal atau disebut pula *sperm-storage tubules* merupakan tempat pertama kali sel sperma transit di saluran reproduksi unggas sebelum terjadi pembuahan di leher infundibulum. Jumlah sel sperma tersimpan (SST) di tubulus ayam ini berpengaruh terhadap fertilitas telur. Sel sperma yang tersimpan di saluran reproduksi ayam dipengaruhi oleh kualitas sel sperma dan dosis inseminasi (Brillard dan McDaniel, 1986, Bakst dan Brillard, 1990 dan Bramwell *et al.*, 1996), keberadaan telur di uterus serta kontraksi *utero-vaginal junction* (Bakst, 1994 dan Wishart, 1994). Mekanisme transport dan penyimpanan sel sperma di oviduk hingga saat ini masih merupakan misteri yang menarik untuk didiskusikan, namun diduga umur dan strain ayam berpengaruh dalam kemampuan penyimpanan sel sperma. Hal ini

terlihat bahwa semakin tua umur ayam semakin rendah fertilitasnya, sementara itu kebutuhan sel sperma semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya umur ayam (de Revier dan Brillard, 1984 serta Brillard *et al.*, 1989). Pengaruh umur terhadap penurunan reproduksi ayam ini belum diketahui dengan jelas, namun menurut hipotesis Wishart (1994) karena respon glandula uterus terhadap sel sperma mulai menurun. Penelitian van Krey *et al.* (1971) menunjukkan bahwa jumlah SST pada ayam pembibit petelur lebih tinggi dibandingkan dengan ayam pembibit pedaging. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jumlah sel sperma tersimpan (SST) pada oviduk ayam yang diukur pada umur dan strain ayam serta dosis inseminasi yang berbeda. Pengamatan jumlah SST dilakukan mulai satu jam hingga 21 hari setelah inseminasi sehingga akan diketahui

lebih jelas laju lintas sel sperma di saluran reproduksi ayam.

### Materi dan Metode

Penelitian ini dilakukan di *Station de Recherches Avicoles, INRA centre de Tours*, Perancis. Sebanyak 326 ekor ayam pembibit terdiri dari 159 pembibit petelur dan 167 pembibit pedaging digunakan dalam penelitian ini. Ayam tersebut disuntik dengan prostaglandin ( $PG F_{2\alpha}$ ) agar terjadi *oviposition* paksa. Tiga jam setelah *oviposition* paksa ayam diinseminasi dengan dosis 60 dan 240 juta sel sperma/ekor/ml dari pejantan pembibit pedaging ISA 99. Inseminasi dilakukan pada umur 30-32 minggu (HDA petelur 85% dan HDA pedaging 77%) dan 58-60 minggu (HDA petelur 67% dan HDA pedaging 50%). Sebagian ayam betina yang telah diinseminasi dibunuh pada 1 dan 6 jam setelah inseminasi kemudian berturut-turut pada 1, 2, 4, 7, 14 dan 21 hari setelah inseminasi dengan menggunakan sodium pentobarbitol. Oviduk kemudian dikeluarkan untuk diambil bagian glandula utero-vaginal. Bagian glandula utero-vaginal ini kemudian diikat pada kedua ujungnya kemudian diberi cairan Holland Bouin's, sebagai pengikat sel sperma pada silia sel. Tubulus yang sudah terikat kemudian disimpan pada plastik berukuran 4 x 6 cm. Preparat *glandula utero-vaginal* selanjutnya disimpan dalam cairan parafin selama 5-7 hari kemudian dilakukan pembuatan preparat histologi dengan ketebalan 7 mikrometer yang diawetkan dengan hematoxylin-eosin dan seterusnya dilakukan pemeriksaan sel sperma tersimpan (SST) di tubulus dari utero-vaginal tersebut.

Persentase dari setiap luas tubulus yang mengandung SST dihitung dari 50 potongan dengan pembesaran 240 kali. Perhitungan jumlah sel sperma yang masih mempunyai ekor dihitung menurut metode

Gilbert *et al.* (1968). Jumlah SST pada glandula utero-vaginal dikategorikan dalam 3 kelompok yaitu: mengandung 0 sel sperma, 1-5 sel sperma dan mengandung > 5 sel sperma. Hasil perhitungan SST untuk setiap pemotongan ayam dari setiap interval waktu setelah inseminasi kemudian dianalisis dengan analisis variansi rancangan acak lengkap faktorial ( $2 \times 2 \times 2$ ) menggunakan program Systat (Wilkinson, Leland, Systat Inc, Evanston, USA).

### Hasil dan Pembahasan

Terlihat pada Tabel 1 bahwa jumlah SST di tubulus pada 0, 1-5 dan >5 sangat nyata ( $<0,01$ ) dipengaruhi oleh strain ayam. Ayam pembibit petelur mampu menyimpan sel sperma antara 1-5 dan >5 lebih banyak dibandingkan dengan ayam pembibit pedaging khususnya pada ayam muda yang diinseminasi pada umur 30-32 minggu. Sebaliknya tubulus yang mengandung 0 sel sperma lebih banyak dijumpai pada ayam pembibit pedaging dibanding dengan ayam tipe petelur baik pada umur muda atau tua (Tabel 2). Jumlah SST pada ayam pembibit pedaging yang diperiksa satu jam setelah inseminasi ternyata lebih banyak dibandingkan dengan ayam tipe petelur, tetapi apabila diperiksa enam jam kemudian sampai hari ke 21 akan terjadi sebaliknya. Hal ini diduga sel silia lumen oviduk ayam tipe petelur lebih responsif terhadap sel sperma dibanding dengan ayam tipe pedaging (Brillard, 1990). Hasil penelitian histologi yang dilakukan oleh van Krey *et al.* (1971) memperlihatkan bahwa jumlah SST pada oviduk ayam petelur lebih banyak dibanding dengan ayam broiler.

Pada gambar 1 dan 2 menunjukkan perbedaan jumlah sel sperma tersimpan antara 1-5 dan > 5 dari induk ayam

Tabel 1. Nilai F dan tingkatan signifikansi dari persen SST

| Sumber variasi                   | Persentase sel sperma |         |         |
|----------------------------------|-----------------------|---------|---------|
|                                  | 0                     | 1-5     | > 5     |
| Strain Ayam                      | 34,05**               | 23,41** | 26,73** |
| Umur                             | 11,91*                | 16,43** | 7,20**  |
| Dosis Inseminasi                 | 15,75**               | 12,74** | 12,11** |
| Interaksi:                       |                       |         |         |
| Strain x Umur                    | 5,19*                 | 6,05*   | 2,75    |
| Strain x Dosis Inseminasi        | 1,95                  | 1,47    | 1,74    |
| Umur x Dosis Inseminasi          | 0,55                  | 1,19    | 0,03    |
| Strain x Umur x Dosis Inseminasi | 1,19                  | 0,40    | 0,02    |

Keterangan: \* berbeda pada 0,05

\*\* berbeda pada 0,01

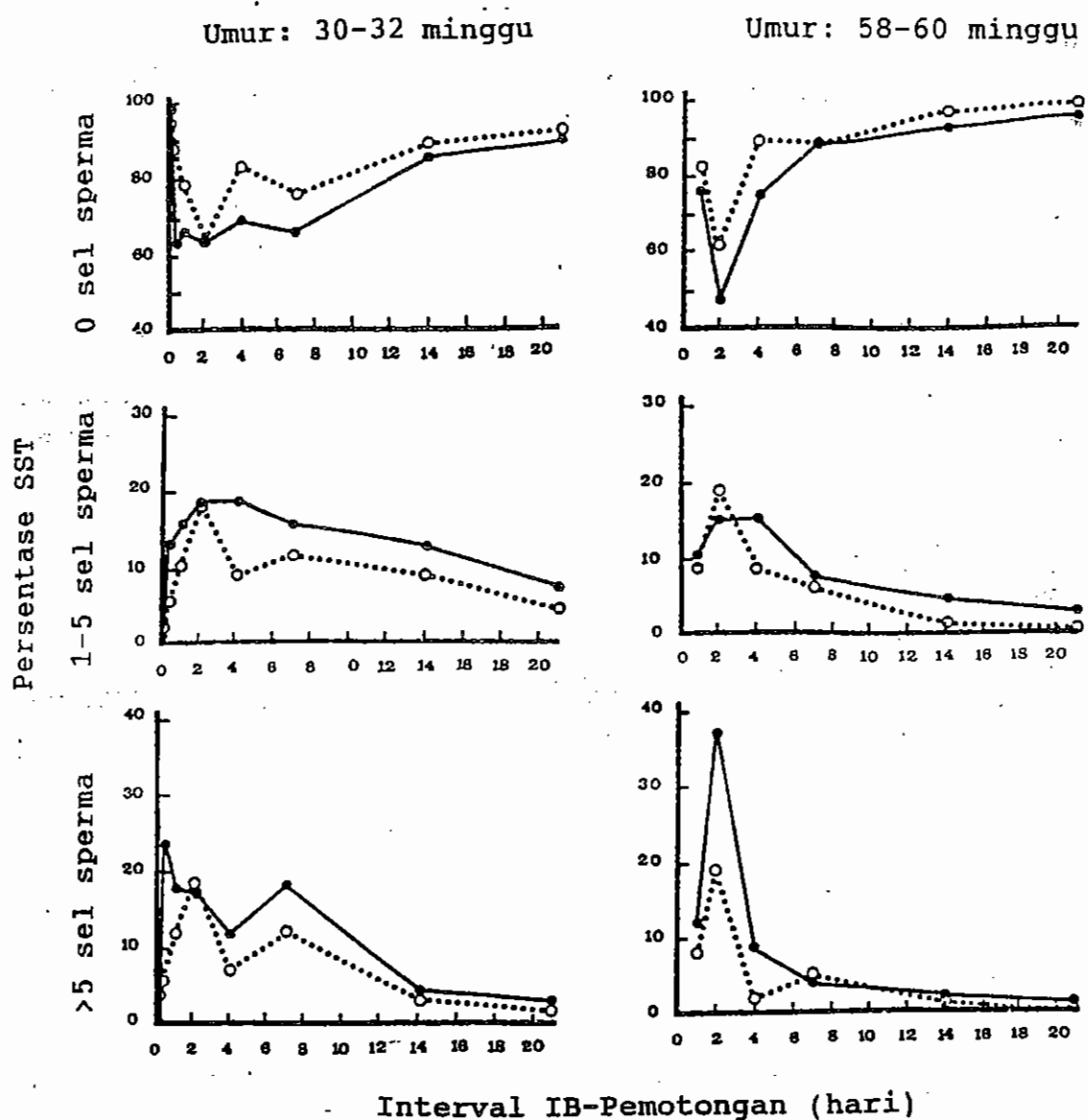
Tabel 2. Persentase sel sperma dalam glandula utero-vaginal pada strain, umur dan dosis inseminasi yang berbeda (n=4-7 ekor/ perlakuan)

| Strain                   | Pembibit Petelur |      |       |      | Pembibit Pedaging |      |       |      |
|--------------------------|------------------|------|-------|------|-------------------|------|-------|------|
|                          | 30-32            |      | 58-60 |      | 30-32             |      | 58-60 |      |
| Umur (minggu)            |                  |      |       |      |                   |      |       |      |
| Dosis (10 <sup>6</sup> ) | 60               | 240  | 60    | 240  | 60                | 240  | 60    | 240  |
| Waktu pemotongan:        |                  |      |       |      |                   |      |       |      |
| 1 jam                    | 8,7              | 0,3  | -     | -    | -                 | -    | 5,5   | 11,2 |
| 6 jam                    | 11,2             | 32,9 | -     | -    | -                 | -    | 13,1  | 12,8 |
| 1 hari                   | 18,0             | 36,9 | 17,0  | 23,0 | 11,8              | 24,1 | 14,5  | 21,9 |
| 2 hari                   | 40,5             | 36,8 | 36,8  | 52,7 | 22,3              | 29,6 | 13,7  | 22,5 |
| 4 hari                   | 16,1             | 31,6 | 10,5  | 29,8 | 14,8              | 20,3 | 7,7   | 15,2 |
| 7 hari                   | 27,2             | 36,6 | 11,7  | 9,9  | 8,5               | 9,1  | 9,7   | 12,4 |
| 14 hari                  | 12,4             | 16,9 | 2,8   | 4,4  | 3,9               | 7,8  | 3,8   | 6,0  |
| 21 hari                  | 7,3              | 10,6 | 0,3   | 7,0  | 0,5               | 4,4  | 2,2   | 0,7  |

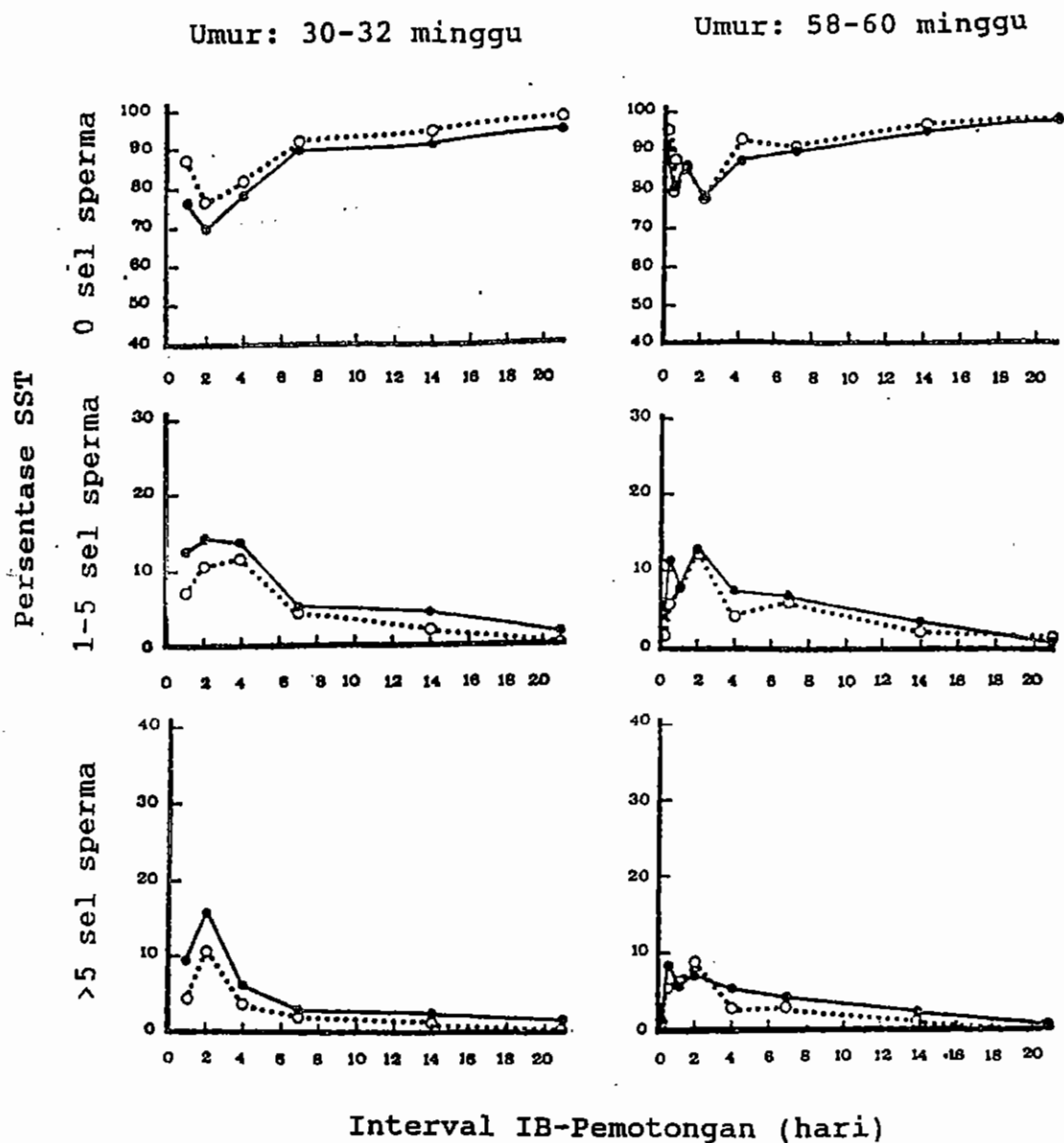
pembibit petelur maupun induk pembibit pedaging pada dua umur yang berbeda yaitu 30-32 minggu dan 58-60 minggu. Keberadaan sel sperma dalam tubulus dideteksi pada satu jam hingga enam jam setelah inseminasi pada ayam muda tipe broiler belum banyak diketemukan sel sperma sebaliknya pada ayam tua diketemukan sebanyak 5,5-11,2%, pada ayam tipe petelur umur muda ternyata SST mulai diketemukan pada satu jam setelah inseminasi sebanyak 0,3-8,7%. Jumlah sel sperma mulai diketemukan merata pada 24 jam pertama setelah inseminasi baik pada ayam tipe pedaging maupun petelur pada umur muda dan tua. Tetapi apabila dilihat pada hari kedua setelah inseminasi ternyata jumlah sel sperma ini meningkat terutama pada ayam tua. Jumlah maksimal sel sperma tersimpan di tubulus pada hari kedua setelah inseminasi menunjukkan persentase yang paling tinggi yaitu sebanyak 13,7-52,7% (Tabel 2). Ini berarti penetrasi sel sperma di saluran reproduksi relatif lambat dan tidak dapat diketahui dengan pasti. Menurut Brillard (1990) migrasi sel sperma di oviduk ayam dimulai antara 1-24 jam setelah inseminasi dan jumlah SST di *glandula utero-vaginal* mulai meningkat 3 hari setelah inseminasi, sementara itu pada kalkun terjadi 5 hari setelah inseminasi. Hasil ini berlawanan dengan Bobr (1964) bahwa migrasi sel sperma dalam oviduk dilakukan sangat cepat. Terdapat perbedaan yang nyata antara jumlah SST pada ayam umur muda dibanding dengan ayam tua (Tabel 1 dan Tabel 2). Jumlah SST pada ayam umur muda lebih banyak dibanding dengan umur tua. Terlihat bahwa jumlah SST pada ayam muda tipe petelur lebih banyak dibandingkan dengan tipe pedaging. Terdapat interaksi antara strain dengan umur ayam terhadap jumlah SST antara 0 dan 1-5 sel sperma di oviduk. Penurunan jumlah SST pada oviduk ayam tua hingga saat ini belum diketahui penyebabnya, tetapi diduga karena

meningkatnya sifat alergi sel silia terhadap sel sperma (Wishart, 1994) sehingga meningkatkan hambatan dari vagina terhadap lajulintas sel sperma dalam oviduk. Nakada dan Koga (1990) menyatakan bahwa pada ayam tua terjadi penurunan efisiensi penetrasi sel sperma ke dalam *utero-vaginal junction*, dan mungkin juga adanya hubungan dengan perubahan fungsi ovarium pada ayam tua. Selanjutnya Bakst (1994) menyatakan bahwa responsibilitas oviduk terhadap sel sperma dan permeabilitas membran plasma seminal terhadap binding immunoglobulin silia sel mulai menurun pada ayam tua. Lebih lanjut Ashizowa *et al.*, (1994) menduga bahwa mobilitas sel sperma selalu berinteraksi dengan sel silia di oviduk sehingga menentukan jumlah SST di oviduk tidak selalu sama pada setiap bagian. Penurunan jumlah SST pada ayam tua menyebabkan penurunan fertilitas (Brillard *et al.*, 1989), untuk mengatasi hal itu maka ayam tua perlu diinseminasi dengan dobel dosis.

Inseminasi dengan dosis tinggi (240 juta sel sperma/ml/ekor) berpengaruh nyata terhadap penyimpanan spermatozoa pada oviduk dibandingkan dengan dosis rendah (60 juta sel sperma/ml/ekor) (Gambar 1 dan 2). Hal ini berarti bahwa dosis inseminasi menyebabkan jumlah SST dalam oviduk meningkat. Meskipun peningkatan jumlah SST relatif sedikit tetapi masih menunjukkan perbedaan nyata ( $P < 0,05$ ) diantara dosis inseminasi yang berbeda. Hasil ini berlawanan dengan penelitian Compton dan van Krey (1979) bahwa tidak terdapat perbedaan jumlah sel sperma tersimpan dalam oviduk terhadap ayam yang di inseminasi dengan 23 dan 47 mikroliter sperma segar. Sebaliknya de Revier dan Brillard (1984) dan Brillard *et al.*, (1986) serta Bramwell *et al.*, (1996) telah mendapatkan peningkatan fertilitas dengan cara meningkatkan dosis inseminasi.



Gambar 1. Persentase SST pada ayam pembibit petelur pada umur, dosis dan waktu pemeriksaan berbeda (garis lurus berarti dosis 240 juta dan garis putus 60 juta sel sperma/ml)



Gambar 2. Persentase SST pada ayam pembibit pedaging pada umur, dosis dan pemeriksaan yang berbeda (garis lurus berarti dosis 240 juta dan garis putus 60 juta sel sperma/ml).

Laju lintas sel sperma terjadi pada 24 jam setelah inseminasi sampai hari ke 21 setelah inseminasi baik pada ayam pembibit petelur maupun pembibit pedaging. Hal ini berarti migrasi sel sperma terjadi diantara interval inseminasi. Bakst (1988) menyatakan bahwa lumen saluran reproduksi dapat meningkatkan transport sel sperma tetapi ketika diukur pada hari ke 13 setelah inseminasi tidak diketemukan lagi sel sperma yang tersimpan di tubulus reproduksi. Pada penelitian ini migrasi sel sperma mulai terjadi dua hari setelah sel sperma dimasukkan kedalam vagina. Hal ini berarti bahwa lumen oviduk berperan besar terhadap lajulus sel sperma dalam saluran reproduksi seperti halnya pada *cervix* mamalia.

### Kesimpulan

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jumlah SST dalam saluran reproduksi ayam muda tipe pembibit petelur yang diukur pada waktu yang sama setelah inseminasi lebih banyak dibandingkan dengan ayam tua tipe pembibit pedaging. Jumlah SST di oviduk ayam ditentukan oleh dosis inseminasi, semakin tinggi dosis inseminasi semakin meningkatkan jumlah SST baik pada ayam muda atau tua pada dua strain yang berbeda. Sel sperma mulai diketemukan di oviduk pada dua hari setelah inseminasi, hal ini berarti *glandula utero-vaginal* ayam berperan dalam penyimpanan sel sperma setelah inseminasi.

### Ucapan terima kasih

Kepada M. F. Scheller dan J. Courtemanche serta J. M. Meslier diucapkan terima kasih atas kolaborasi dalam penyediaan preparat histologi dan *technical service*.

### Daftar Pustaka

- Ashizowa, K., G. J. Wishart and Y. Tsuzuki. 1994. Sperm motility in the hen's reproductive tract. Proc. the 9<sup>th</sup> Europ. Poult. Conf. Glasgow, U. K. Vol. II:173-176.
- Bakst, M. R. 1994. Oviducal sperm storage in poultry. Proc. the 9<sup>th</sup> Europ. Poult. Conf. Glasgow, U.K., Vol. II:165-168.
- Bakst, M. R. and J.P. Brillard. 1990. Sperm transport and selection in the turkey oviduct. In: Control Fertility in domestic birds. Les Colloques de l'INRA No. 54:113-119.
- Bramwell, R. K., C. D. McDaniel, J. L. Wilson and B. Howarth. 1996. Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the perivitelline layer overlaying the germinal disc. Poult. Sci. 75:755-762.
- Brillard, J.P. 1990. Déplacements des spermatozoïdes dans l'oviducte chez la poule et la dinde. Reprod. Nutr. Dev. 30:175-182.
- Brillard, J. P. and G.R. McDaniel. 1986. The influence of semen dose and frequency of insemination of fertility in dwarf broiler breeder hens. Poult. Sci. 65:2330-2334.
- Brillard, J. P., G. R. McDaniel, M. de Reviers and J. W. Drane. 1989. Expression of several traits of fertility in young and old dwarf broiler breeder hens inseminated with duplicate doses of semen. Poult. Sci. 68:558-563.
- Compton, M. M. and H. P. van Krey. 1979. A histological examination of the utero-vaginal sperm storage glands in the domestic hen following an insemination with variable semen dosages. Poult. Sci. 58:478-480.
- de Reviers, M. and J. P. Brillard. 1984. Variations in the sperm production, the sperm output in the number to be inseminated in ageing broilers breeders. Proc. XVII<sup>th</sup> World's Poult. Cong. Helsinki: 98
- Gilbert, A. B., M. E. Reynolds and F. W. Lorenz. 1988. Distribution of spermatozoa in the oviduct and fertility in domestic birds. V. Histochemistry of the utero-vaginal sperm-host glands of the domestic hens. J. Reprod. Fert. 16:433-444
- Howarth, B. 1994. Sperm-egg interaction in birds. 1994. Proc. 9<sup>th</sup> Europ. Poult. Conf. Glasgow, U. K., Vol. II: 169-172.
- Nakada, K. and O. Koga. 1990. Stimulation of Secretion of shell gland fluid and calcium by the presence of ovum or ovum-like mass containing artificial yolk in the oviduct uterus of the hen. Jpn. Poult. Sci. 27:21-28.



- Wishart, G. J. 1994. Vaginal sperm transport and sperm selection. Proceedings the 9<sup>th</sup> Europ. Poul. Conf. Glasgow, U. K. Vol.II: 161-164 van Krey, H. P., P. B. Siegel and A. T. Leighton Jr. 1971. Repeatability estimates quantification of uterovaginal sperm-host gland numbers and populations patterns. Biol. Reprod. 4:31-34.